

SULFATED POLYSACCHARIDE DS 4152 AND VASCULARIZATION INHIBITOR AND ANTITUMOR AGENT CONTAINING THE SAME

Patent Number: JP63119500
Publication date: 1988-05-24
Inventor(s): INOUE KAZUKIYO; others: 03
Applicant(s): DAI ICHI SEIYAKU CO LTD
Requested Patent: JP63119500
Application Number: JP19870125443 19870522
Priority Number(s):
IPC Classification: C07K15/14; A61K31/725; A61K37/02; C08B37/00; C12P19/04
EC Classification:
Equivalents: JP2544136B2

Abstract

NEW MATERIAL:A sulfated polysaccharide DS 4152 having the following physical and chemical properties. Molecular weight, 29,000+ or -3,000; elemental analysis (%), C 24.42-25.76, H 3.34-3.98, N 0.51-0.89, S 10.6-11.7, P 0.77-1.06; sugar content, 57+ or -3; protein content, 1+ or -0.5; specific rotation, $[\alpha]_D^{25} = -37+$ or -1 deg. (0.5% aqueous solution); main IR absorption band, 1,240, 840 (shoulder), 810 (cm^{-1} ; KBr); solubility, easily soluble in water and almost insoluble in organic solvents such as ether, benzene, chloroform, methanol, ethanol, etc.; pH, 6-8 (3% aqueous solution); etc.

USE:A vascularization inhibitor and antitumor agent. The activity can be promoted when combined with a steroid drug.

PREPARATION:For example, pyrogenic substance, etc., having a molecular weight of $\geq 15 \times 10^4$ are removed by a proper molecular weight fractionation method from DF 4639 separated from a cultured product of *Arthrobacter* sp. AT (FERM P-5255).

Data supplied from the esp@cenet database - I2

1988

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 昭63-119500

⑬ Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)5月24日

C 07 K 15/14
A 61 K 31/725ABL
ABY

8318-4H

7252-4C ※審査請求 未請求 発明の数 5 (全13頁)

⑮ 発明の名称 硫酸化多糖体DS 4152並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤

⑯ 特 願 昭62-125443

⑰ 出 願 昭62(1987)5月22日

優先権主張 ⑱ 昭61(1986)5月23日 ⑲ 日本(JP) ⑳ 特願 昭61-118847

㉑ 発 明 者 井 上 和 弘 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内

㉒ 発 明 者 田 中 紀 子 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内

㉓ 発 明 者 是 永 博 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内

㉔ 出 願 人 第一製薬株式会社 東京都中央区日本橋3丁目14番10号

㉕ 代 理 人 弁理士 有賀 三幸 外2名

最終頁に続く

明 細 書

ガラクトース誘導)

1. 発明の名称

蛋白含量(%) : 1 ± 0.5 (ローリー・フォ

硫酸化多糖体DS 4152 並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤

リン法、牛血清アルブミン標準)

2. 特許請求の範囲

(4) 比旋光度

1. ナトリウム塩として下記の物理化学的性質を有する硫酸化多糖体DS 4152。

 $(\alpha)_D^{25} -37^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (0.5%水溶液)

(5) 赤外線吸収スペクトルにおける主要吸収帯

(1) 分子量(ゲルろ過法による)

1240, 840(肩), 810(cm^{-1} ; KBr)22000 \pm 3000

(6) 溶解性

(2) 元素分析値

水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロホルム、メタノール、エタノール等の有機溶媒

C 24.42~25.76% H 3.34~3.96%

には殆ど不溶。

N 0.51~0.89% S 1.06~1.17%

P 0.77~1.06%

(7) 着色反応

(3) 糖および蛋白質の含量

フェノール-硫酸、アンスロン-反応、ビ

糖含量(%) : 57 ± 3 (フェノール-硫酸法、

ムレフト反応およびローリー・フォリン反応

本発明は、新規な炭酸化多環体 08 4102 並びにこれを有効成分として含有する血管舒張剤及び炭酸感作用並びに炭酸感作用と更にユナロイド剤を含有する血管舒張剤及び炭酸感作用に関する。

水〇硫酸銅、五硫酸銅、五重碳酸銅、
 2. 硫酸化多量体 0.8 4.52 と、メロイ
 と含有成分として含有する硫酸銅。
 3. 硫酸銅、硫酸銅、硫酸銅

水○地圖紙○頂記載○由雪野位均制測。

[illegible]

67 01 4 1 1 6 5 4 1 1 0 1 1 2 1 1 1 1

11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22

圖加水分解物のアミロ澱粉分析による分析

04 第 2 卷 / 第 2 期 / 2007 年 12 月

• ४४१० :

04:19:0144247277013x

— ८४ —

0-247-X, 0-868-X, 108

(6) 建設費の不足、生活費の不足、給食費の不足

180~8 (3% 濃度水溶液)

(8) 國家、社會、個人

संक्षेपमन्त्रोक्तम्

[illegible]

は原稿。水原氏のエルソ・エルガソ氏也。

2. 炭化多量体 0.8 4.92 を有効成分として
含有する血管新生抑制剤。

1. リューナ性脳膜炎、延髄性脳膜炎、延髄、
視床性脳膜炎、末梢性脳膜炎に有効な特許用
木の樹脂系2項記載の血管新生抑制剤。

4. 炭化多量体 0.8 4.92 を有効成分として
含有する炭素樹脂。

5. 炭化多量体 0.8 4.92 と、スチロイド類
とを有効成分として含有する血管新生抑制剤。

6. スチロイドが電質カルシウム阻害、異体カ
ルシウム阻害、エストロゲン阻害及びプロモスチ
ンから選ばれたものである特許請求の範囲系
0項記載の血管新生抑制剤。

7. リューナ性脳膜炎、延髄性脳膜炎、延髄、
視床性脳膜炎、末梢性脳膜炎に有効な特許用

(問題を解決するための手段)

そこで、本研究所は、この病原性物質を
「出すべく、更に研究を怠らなつてゐたと
う。DP 4039 は、いづかの成分の割合が
てあり、そのうち 0.03 4152 とを分けられ
た一部分は病原性がなく、しかも優れた血害
野生物製作用及び抗腫瘍作用を有することそ
見出した。

いた（特開昭56-07301号、特開昭57-42027号）及び特開昭59-25320号）。本発明者は、置々の有用性の期待される複素化多環体DP 4030 について生物学的特性を明らかにすべく検討をなした結果、DP 4030 が強い発癌性を有することを示すこととなった。

圖列係屬圖表，非圖列圖表，非圖列圖表。

[illegible]

● 項記載の血常新生の創制。

圖から選ばれたものである特殊要求の図面表

١٨٤٥

6. 2004年12月31日，某公司资产总额为1000万元，负债总额为400万元，所有者权益总额为600万元。

と含有成分として含有する血電解生成物

5 英國化學家 1845 年 7 月 2 日 英國

含有十八烷基基團。

4. 假設化學體系 03 4102 含有鈉離子 1-

米の生産額2項記載の合計を生産額とする。

圖見於圖中，其為兒童所不識也。

[illegible]

含有する血電解生知制。

2. 設備化學部 08 4152 子音助成分 1

63-119500 (2)

ノ等を使用することもできる。

| 機 体 | 用 量 $\frac{mg}{100g}$ | 体 積 上 升 度 (%) | | | | 特 定 * |
|---------|--------------------------|---------------|------|------|------|-------|
| | | 材 料 | | | | |
| DE 4152 | 7.6 | 0.20 | 0.10 | 0.15 | 0.45 | - |
| DF 4030 | 37.5 | 0.20 | 0.60 | 0.20 | 0.90 | - |
| | 1.5 | 1.55 | 1.25 | 1.40 | 4.20 | + |
| | 7.5 | 1.40 | 2.00 | 1.80 | 5.20 | + |
| H 面分 | 1.5 | 1.80 | 1.40 | 2.20 | 5.50 | + |
| | 7.5 | 1.80 | 1.75 | 2.65 | 5.20 | + |

(1) 02 4152 の急凍電性(7ヶ所、特庄)は、
10.41 2000 時/℃以上である。

実験例 1 (例)

02 4639 (40ヶ所)を300℃の水-エ
ノール(10:3)溶液に溶解し、1x10
度(4.18 cal、7ヶコソ仕組)を用いて、急
凍て加圧(1.5 kg/cm²)下、室温で数分
置した。上記溶液を追加しながら急速冷却が
約3℃となるまで実施した。急速冷却の過程は
(約50℃)に1000 時の速度で1リットルを
加えて溶解した後、逐分溶解に上り得た
上清を約300℃のエノール中へ保持下置
した。生成した沈澱を濾ひ、90%エノ
ール、エノール-7ヶコソの順に洗った後、
真空乾燥(55℃、5時間)して02 4152

(B) 005671-39 2444

特開第63-119500(9)

白色粉末33%を得た。

このものの物理化学的性質は、次に示す如く、
蛋白、S及びPの含量を除き、実施例1(A)の
DS 4152 と同一であつた。

糖含量 58%

S含量 11.3%

蛋白含量 0.9%

P含量 0.92%

高濃アルブミンクロマトグラムを第4図に示す
(0.3000 SWカラム、0.1M酢酸ナトリウム緩衝液(pH 6.5)、0.8 ml/分)。

実施例2

局所投与鼠血管新生阻止試験(直接法)：

局所を用い、タイラーとフォータマン

(Natl. 297:307, (1962))の方法を用いた。

ステロイドとしては、酢酸コルチゾン
を0.5 mg/局所の量(血管新生に影響のない量)を用いた。また、比較として、DP 4639
及びE成分についてもその活性を調べた。この結果を第5表に示す。

第5表

50%血管新生阻止量(ID₅₀値)

| | DS 4152 | DP 4639 | E成分 |
|-------------------------------|---------|---------|-----|
| ID ₅₀ 値 (mg/局所) | 3 | 30 | 600 |

実施例4

実施例2と同様な方法で、各種ステロイド
とDS 4152の併用によるID₅₀値の変化を検討した。この結果、種々のステロイドに10

倍改良した以下の方法で行つた。

局(ノーランクロス)の4~5日経受後、
の投与鼠に、生理食塩水で溶解したDS 4152
又はヘパリンを添加し、37℃で培養した。

高濃添加2日後に、局所血管の発達を
生理食塩水のみを添加した対照と比較し、プロ
ピット法により、50%血管新生阻止量
(ID₅₀値)を算出した。

この結果、本発明のDS 4152のID₅₀値
は、160 mgである。これに対し、ヘパ
リンは、100 mgでも作用を示さなかつた。

実施例3

局所投与鼠血管新生阻止試験(直接法)：

実施例2と同様な方法で、ステロイドと

DS 4152を併用した場合の効果について調

べた。DS 4152を加えれば、それぞれの局
所投与鼠血管新生阻止活性が16~100倍
に増加することが明らかとなつた(第6表)。

第6表

| ステロイド | ID ₅₀ 値(mg/局所) | |
|------------------|---------------------------|--------------------|
| | 単投 | DS 4152(増加)と併用(倍率) |
| コルチゾンアセテート | 120 | 017 (7.1倍) |
| ハイドロコルチゾン | 110 | 016 (6.9) |
| プレドニゾン | 130 | 008 (16.3) |
| 6α-メチルプレドニゾン | 115 | 003 (38.3) |
| メチルプレドニゾン | 080 | 005 (16.0) |
| テトラヒドロ | 100 | 001 (100.0) |
| プロゲステロン | 102 | 049 (2.1) |
| メトキシプロゲステロンアセテート | 112 | 042 (2.7) |
| 17β-エストラジオール | 196 | 028 (7.0) |
| フルオキシメチステロン | 124 | 012 (10.3) |
| 5α-アンドロステロン | 232 | 029 (8) |

実験例5

血管新生阻止作用 (0.01% 投与) :

DS 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系雄マウスに皮下注射し、6週間後、ICR系雄マウスに皮下注射し、0.0133% エンブリン液を採取した。0.0133% エンブリン液に皮下注射し、2日後に解剖した。この結果を第7表に示す。

実験例6
血管新生阻止作用 (0.01% 投与) :

DS 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系雄マウスに皮下注射し、6週間後、ICR系雄マウスに皮下注射し、0.0133% エンブリン液を採取した。0.0133% エンブリン液に皮下注射し、2日後に解剖した。この結果を第7表に示す。

第7表

| 投与量 (μg/μl) | 血管新生阻止率 (%) |
|----------------|----------------|
| 3 | -5.9 |
| 30 | 24.4 |
| 300 | 62.7 |
| 3 | 1.6 |
| 30 | 37.8 |
| 300 | 66.1 |

第8表

| 投与量 (μg/μl) | 血管新生阻止率 (%) |
|----------------|----------------|
| 3 | 0.22% |
| 30 | 0.33% |
| 300 | 0.48% |
| 3 | 0.27% |
| 30 | 0.33% |
| 300 | 0.48% |

DS 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系雄マウスに皮下注射し、6週間後、ICR系雄マウスに皮下注射し、0.0133% エンブリン液を採取した。0.0133% エンブリン液に皮下注射し、2日後に解剖した。この結果を第7表に示す。

実験例7

血管新生阻止作用 (0.01% 投与) :

DS 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系雄マウスに皮下注射し、6週間後、ICR系雄マウスに皮下注射し、0.0133% エンブリン液を採取した。0.0133% エンブリン液に皮下注射し、2日後に解剖した。この結果を第7表に示す。

実験例8
血管新生阻止作用 (0.01% 投与) :

以下本日

する。

実験例 1

原材料：

0.8452 1.2g、塩化ナトリウム 0.90

時を原料用蒸水に溶解し、1.0gとする。

この溶液をメチルアルコールで薄めた

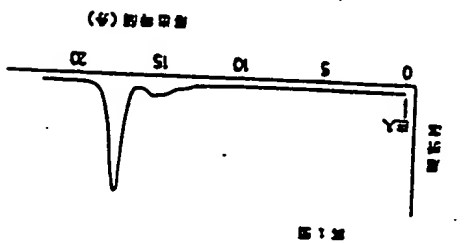
後、77℃に冷却し、1.5分で30分間

SECRET 12

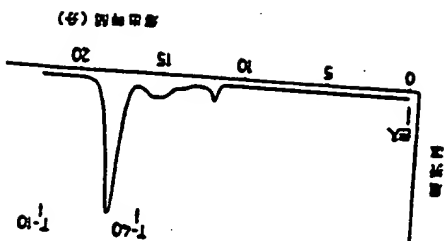
● 注意

第 1 圖 4 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

८ १३

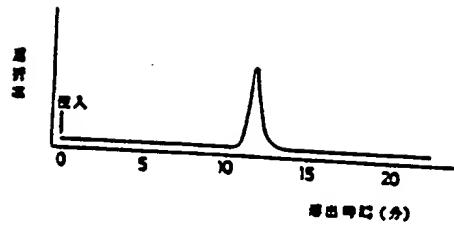


512

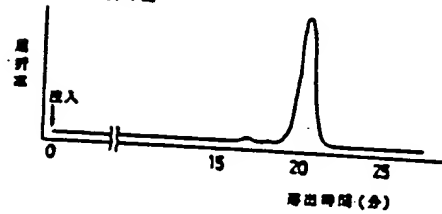


三 乙 基

第3図



第4図



第1頁の続き

④Int.Cl.

A 61 K 31/725
37/02
C 08 B 37/08
C 12 P 19/04
// (A 61 K 31/725
31:56)

識別記号

ADU
ABE

庁内整理番号

8615-4C
6779-4C
C-8515-4B
7252-4C

発明者 小河 秀正

〒

東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内